



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده داروسازی و علوم دارویی

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان:

مطالعات داکینگ مولکولی مشتقات جدید سارافلوکساسین به عنوان
مهارکننده‌های بالقوه DNA ژیراز و بررسی اثر سمیت سلولی آنها
بر رده‌های سلولی A-375 و ۳۰۳

توسط:

سجاد خلیلی

اساتید راهنما:

دکتر حمید فروتن‌فر

دکتر محمدحسن مصحفی

دکتر عالیہ عامری

استاد مشاور:

دکتر علیرضا فرومدی



**Kerman University of Medical Sciences
Faculty of Pharmacy**

Pharm. D Thesis

Title:

**Molecular docking studies of novel derivatives of sarafloxacin as
potential DNA gyrase inhibitor and evaluation thier cytotoxic effect on**

۳۰۳ ۰۰۰ ۰-۳۷۵ ۰۰۰۰ ۰۰۰۰۰

By:

Sajad Khalili

Supervisors:

Dr. Hamid Forootanfar

Dr. Mohammad Hasan Moshafi

Dr. Alieh Ameri

Advisor:

Dr. Alireza Foroumadi

اظهارنامه و حق انتشار

اینجانب سجاد خلیلی متعهد می‌شوم موارد مذکور در این پایان‌نامه حاصل فعالیت‌های پژوهشی خود بوده و مسئولیت صحت داده‌ها و اطلاعات گزارش شده در این پایان‌نامه را به عهده می‌گیرم. تمامی حقوق مادی و معنوی این پایان‌نامه متعلق به دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان بوده و هرگونه استفاده تنها با کسب اجازه ممکن خواهد بود. استناد به مطالب و نتایج این پایان‌نامه در صورتی که به‌انحوا مناسبی ارجاع داده شود بلامانع است.

امضاء دانشجو

تاریخ

۹۹/۰۵/۱۹

Pharm.D Thesis

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
خلاصه فارسی.....	IV
Abstract.....	۴
فهرست مطالب.....	IV
فهرست جدول‌ها.....	VIII
فهرست شکل‌ها.....	IX
فهرست نمودارها.....	I

فصل اول: مقدمه

۱-۱ - پیشگفتار و هدف.....	Error! Bookmark not defined.
۱-۲ - کینولون‌ها.....	Error! Bookmark not defined.
۱-۳ - فلوروکینولون‌ها.....	Error! Bookmark not defined.
۱-۳-۱ - ایجاد حساسیت به نور فلوروکینولون‌ها (PHS).....	Error! Bookmark not defined.
۱-۳-۲ - فلوروکینولون‌ها و واکنش‌های PHS.....	Error! Bookmark not defined.
۱-۴ - سارافلوکساسین.....	Error! Bookmark not defined.
۱-۵ - آنزیم DNA ژیراز.....	Error! Bookmark not defined.
۱-۵-۱ - واکنش DNA ژیراز-کینولون.....	Error! Bookmark not defined.
۱-۶ - سرطان.....	Error! Bookmark not defined.
۱-۶-۱ - سرطان پوست.....	Error! Bookmark not defined.
۱-۷ - مدل‌سازی مولکولی.....	Error! Bookmark not defined.
۱-۸ - داکینگ مولکولی.....	Error! Bookmark not defined.

Error! Bookmark not defined.	۱-۸-۱- شکل نظری داکینگ
Error! Bookmark not defined.	۱-۸-۲- انواع داکینگ
Error! Bookmark not defined.	۱-۹- انتخاب ساختار سه بعدی پروتئین های هدف
Error! Bookmark not defined.	۱-۱۰- انتخاب لیگاند
Error! Bookmark not defined.	۱-۱۱- برنامه AutoDock

فصل دوم: مواد، دستگاه ها و روش ها

Error! Bookmark not defined.	۲-۱- مواد و وسایل مورد استفاده
Error! Bookmark not defined.	۲-۲- دستگاه های مورد استفاده
Error! Bookmark not defined.	۲-۳- نرم افزارهای مورد استفاده
Error! Bookmark not defined.	۲-۴- تهیه محلول ها
Error! Bookmark not defined.	۲-۴-۱- PBS
Error! Bookmark not defined.	۲-۴-۲- تریپسین استریل ۰/۲۵ درصد
Error! Bookmark not defined.	۲-۴-۳- محلول MTT (۰/۵ درصد)
Error! Bookmark not defined.	۲-۴-۴- آنتی بیوتیک ها
Error! Bookmark not defined.	۲-۴-۵- محیط کشت سلولی
Error! Bookmark not defined.	۲-۴-۶- محلول دوکسوروبیسین
Error! Bookmark not defined.	۲-۵- نگهداری و کشت سلول ها
Error! Bookmark not defined.	۲-۵-۱- از انجماد خارج کردن سلول ها
Error! Bookmark not defined.	۲-۵-۲- کشت سلول ها
Error! Bookmark not defined.	۲-۵-۳- واکشت سلول ها
Error! Bookmark not defined.	۲-۵-۴- منجمد نمودن سلول ها
Error! Bookmark not defined.	۲-۵-۵- شمارش و تعیین درصد سلول های زنده در سوسپانسیون سلولی
Error! Bookmark not defined.	not defined.
Error! Bookmark not defined.	۲-۶- مشتقات جدید سارافلوکساسین
Error! Bookmark not defined.	۲-۶-۱- تهیه ترکیبات

۲-۷-۲- انجام آزمایش سمیت سلولی..... **Error! Bookmark not defined.**

۲-۷-۱- اضافه کردن سلول و مشتقات جدید سارافلوکساسین به چاهک‌های میکروپلیت

..... **Error! Bookmark not defined.**

۲-۸- داکینگ مولکولی..... **Error! Bookmark not defined.**

۲-۹- آماده‌سازی فایل pdbqt. لیگاندها..... **Error! Bookmark not defined.**

فصل سوم: نتایج

۳-۱- نتایج آزمایش سمیت سلولی..... **Error! Bookmark not defined.**

۳-۱-۱- بررسی سمیت سلولی روی رده سلولی ۳T۳..... **Error! Bookmark not defined.**

۳-۲- کنترل مثبت در آزمایش سمیت سلولی در رده سلولی ۳T۳..... **Error! Bookmark not defined.**

۳-۲-۱- نتایج آزمایش سمیت سلولی دوکسوروبیسین..... **Error! Bookmark not defined.**

۳-۲-۲- بررسی سمیت سلولی روی رده سلولی A-375..... **Error! Bookmark not defined.**

۳-۳- کنترل مثبت در آزمایش سمیت سلولی در رده سلولی A-375 **Error! Bookmark not**

defined.

۳-۳-۱- نتایج آزمایش سمیت سلولی دوکسوروبیسین..... **Error! Bookmark not defined.**

۳-۴- نتایج داکینگ مولکولی..... **Error! Bookmark not defined.**

فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری

۴-۱- بحث..... **Error! Bookmark not defined.**

۴-۲- پیشنهادات..... **Error! Bookmark not defined.**

منابع

منابع..... ۵

فهرست جدول‌ها

صفحه	عنوان
جدول ۱-۲	مواد و وسایل مورد استفاده.....
جدول ۲-۲	دستگاه مورد استفاده.....
جدول ۳-۲	نرم‌افزارهای استفاده شده در این مطالعه
جدول ۴-۲	اجزای PBS برای تهیه بافر فسفات – سالین
جدول ۵-۲	محیط کشت DMEM با نسبت اجزاء مختلف
جدول ۶-۲	چهار ترکیب مورد استفاده در تهیه سنتز مشتقات سارافلوکساسین
جدول ۱-۳	نتایج داکینگ مولکولی ساختارها با آنزیم DNA ژیراز متعلق به میکروارگانیزم <i>E. coli</i> با کد PDB: 4CKL.....
جدول ۲-۳	نتایج داکینگ مولکولی ساختارها با آنزیم DNA ژیراز متعلق به میکروارگانیزم <i>S. aureus</i> با کد PDB: 5CDP.....

فهرست شکل‌ها

صفحه

عنوان

- شکل ۱-۱- ساختار کینولون‌ها.....**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**
- شکل ۱-۲- ساختار سارافلوکساسین.....**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**
- شکل ۱-۳- نمایش شماتیک ساختار کمپلکس $E + Ia_q \rightleftharpoons [E]a_q + [I]a_q$ **ERROR!**
- BOOKMARK NOT DEFINED.**
- شکل ۱-۲- نمایی از تقسیم‌بندی‌های لامنتوبار در زیر میکروسکوپ**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**
- شکل ۲-۲- مراحل تهیه فایل dpf جهت انجام داکینگ مولکولی**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**
- شکل ۲-۳- نمایی از نرم‌افزار MarvinSketch 16.8.15.0**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**
- DEFINED.**
- شکل ۲-۴- نمایی از برنامه Hyperchem7.....**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**
- شکل ۲-۵- مراحل بهینه‌سازی ساختار به وسیله برنامه Hyperchem7**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**
- NOT DEFINED.**
- شکل ۲-۶- نمایی از نرم‌افزار Gaussview.....**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**
- شکل ۲-۷- نمای نرم‌افزار AutoDockTools.....**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**
- شکل ۳-۱- برهم کنش‌های مربوط به اولین کانفورمر کلاستر شماره ۱ ساختار A در جایگاه فعال آنزیم DNA ژیراز متعلق به میکروارگانیزم *E. coli* با کد PDB: 4CKL**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**
- NOT DEFINED.**
- شکل ۳-۲- برهم کنش‌های مربوط به اولین کانفورمر کلاستر شماره ۱ ساختار B در جایگاه فعال آنزیم DNA ژیراز متعلق به میکروارگانیزم *E. coli* با کد PDB: 4CKL**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**
- NOT DEFINED.**
- شکل ۳-۳- برهم کنش‌های مربوط به اولین کانفورمر کلاستر شماره ۱ ساختار C در جایگاه فعال آنزیم DNA ژیراز متعلق به میکروارگانیزم *E. coli* با کد PDB: 4CKL**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**
- NOT DEFINED.**
- شکل ۳-۴- برهم کنش‌های مربوط به اولین کانفورمر کلاستر شماره ۱ ساختار D در جایگاه فعال آنزیم DNA ژیراز متعلق به میکروارگانیزم *E. coli* با کد PDB: 4CKL**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**
- NOT DEFINED.**

شکل ۳-۵- برهم کنش‌های مربوط به اولین کانفورمر کلاستر شماره ۱ ساختار Simocyclinone D8 (SM8) لیگاند اصلی در جایگاه فعال آنزیم DNA ژیراز متعلق به میکروارگانیسم *E. coli* با کد PDB: 4CKL

ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

شکل ۳-۶- برهم کنش‌های مربوط به اولین کانفورمر کلاستر شماره ۱ ساختار Sarafloxacin در جایگاه فعال آنزیم DNA ژیراز متعلق به میکروارگانیسم *E. coli* با کد PDB: 4CKL

ERROR!

BOOKMARK NOT DEFINED.

شکل ۳-۷- برهم کنش‌های مربوط به اولین کانفورمر کلاستر شماره ۱ ساختار Ciprofloxacin در جایگاه فعال آنزیم DNA ژیراز متعلق به میکروارگانیسم *E. coli* با کد PDB: 4CKL

ERROR!

BOOKMARK NOT DEFINED.

شکل ۳-۸- برهم کنش‌های مربوط به اولین کانفورمر کلاستر شماره ۱ ساختار A در جایگاه فعال آنزیم DNA ژیراز متعلق به میکروارگانیسم *S. aureus* با کد PDB: 5CDP

ERROR! BOOKMARK

NOT DEFINED.

شکل ۳-۹- برهم کنش‌های مربوط به اولین کانفورمر کلاستر شماره ۱ ساختار B در جایگاه فعال آنزیم DNA ژیراز متعلق به میکروارگانیسم *S. aureus* با کد PDB: 5CDP

ERROR! BOOKMARK

NOT DEFINED.

شکل ۳-۱۰- برهم کنش‌های مربوط به اولین کانفورمر کلاستر شماره ۱ ساختار C در جایگاه فعال آنزیم DNA ژیراز متعلق به میکروارگانیسم *S. aureus* با کد PDB: 5CDP

ERROR!

BOOKMARK NOT DEFINED.

شکل ۳-۱۱- برهم کنش‌های مربوط به اولین کانفورمر کلاستر شماره ۱ ساختار D در جایگاه فعال آنزیم DNA ژیراز متعلق به میکروارگانیسم *S. aureus* با کد PDB: 5CDP

ERROR!

BOOKMARK NOT DEFINED.

شکل ۳-۱۲- برهم کنش‌های مربوط به اولین کانفورمر کلاستر شماره ۱ ساختار Etoposide (EVP) لیگاند اصلی در جایگاه فعال آنزیم DNA ژیراز متعلق به میکروارگانیسم *S. aureus* با کد PDB: 5CDP

ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

شکل ۳-۱۳- برهم کنش‌های مربوط به اولین کانفورمر کلاستر شماره ۱ ساختار Sarafloxacin در جایگاه فعال آنزیم DNA ژیراز متعلق به میکروارگانیسم *S. aureus* با کد PDB: 5CDP

ERROR!

BOOKMARK NOT DEFINED.

شکل ۳-۱۴- برهم کنش‌های مربوط به اولین کانفورمر کلاستر شماره ۱ ساختار Ciprofloxacin در جایگاه فعال آنزیم DNA ژیراز متعلق به میکروارگانیسم *S. aureus* با کد PDB: 4CKL

ERROR!

BOOKMARK NOT DEFINED.

شکل ۳-۱۵- ترتیب ترکیبات بر اساس میزان انرژی پیوند با نشان دادن ساختار متعلق به

میکروارگانیزم *E. coli* با کد PDB: 4CKL.....**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

شکل ۳-۱۶- ترتیب ترکیبات بر اساس میزان انرژی پیوند با نشان دادن ساختار متعلق به

میکروارگانیزم *S. aureus* با کد PDB: 5CDP.....**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

دانشکده داروسازی کرمان
Pharm.D Thesis

فهرست نمودارها

صفحه

عنوان

نمودار ۱-۳- مه‌ار رشد رده سلولی ۳T۳ در حضور غلظت‌های مختلف ترکیب A
ERROR!
BOOKMARK NOT DEFINED.

نمودار ۲-۳- مه‌ار رشد رده سلولی ۳T۳ در حضور غلظت‌های مختلف ترکیب B
ERROR!
BOOKMARK NOT DEFINED.

نمودار ۳-۳- مه‌ار رشد رده سلولی ۳T۳ در حضور غلظت‌های مختلف ترکیب C
ERROR!
BOOKMARK NOT DEFINED.

نمودار ۴-۳- مه‌ار رشد رده سلولی ۳T۳ در حضور غلظت‌های مختلف ترکیب D
ERROR!
BOOKMARK NOT DEFINED.

نمودار ۵-۳- حاصل از مه‌ار رشد رده ی سلولی ۳T۳ در حضور غلظت‌های مختلف داروی
دوکسوروبیسین به عنوان کنترل مثبت.....
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

نمودار ۶-۳- مه‌ار رشد رده سلولی A-375 در حضور غلظت‌های مختلف ترکیب A
ERROR!
BOOKMARK NOT DEFINED.

نمودار ۷-۳- مه‌ار رشد رده سلولی A-375 در حضور غلظت‌های مختلف ترکیب B
ERROR!
BOOKMARK NOT DEFINED.

نمودار ۸-۳- مه‌ار رشد رده سلولی A-375 در حضور غلظت‌های مختلف ترکیب C
ERROR!
BOOKMARK NOT DEFINED.

نمودار ۹-۳- مه‌ار رشد رده سلولی A-375 در حضور غلظت‌های مختلف ترکیب D
ERROR!
BOOKMARK NOT DEFINED.

نمودار ۱۰-۳- حاصل از مه‌ار رشد رده سلولی A-375 در حضور غلظت‌های مختلف داروی
دوکسوروبیسین به عنوان کنترل مثبت.....
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

خلاصه فارسی

مقدمه: امروزه به علت گسترش مقاومت‌های دارویی و گسترش بیماری‌ها، لزوم کشف و تحقیق در مورد ترکیبات جدید با طیف اثر بیشتر و عوارض کمتر با اهمیت‌تر شده است. در این بین مشتقات جدید سارافلوکسازین به علت خواص بیولوژیک گسترده‌ای که دارد، علتی شد که سمیت این ترکیبات مورد بررسی قرار گرفت. بر همین اساس سمیت سلولی ۴ ترکیب از مشتقات جدید سارافلوکسازین، روی رده سلولی ۳۳۳ (سلول فیروبلست موشی) و A-375 (سلول‌های سرطان ملانوما) مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: پس از کشت رده سلولی ذکر شده در محیط مناسب تعداد ۱۰۰۰۰ سلول به هر چاهک میکروپلیت ۹۶ خانه افزوده گردید و در انکوباتور CO₂ دار به مدت ۲۴ ساعت گرم خانه‌گذاری شد. سپس ۶ غلظت تهیه شده از ۴ ترکیب مشتقات جدید سارافلوکسازین (۰/۱، ۱، ۱۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) به سلول‌ها افزوده گردید و انکوباسیون برای ۲۴ ساعت دیگر انجام شد و روز بعد معرف MTT به هر چاهک افزوده شد و میزان مهار رشد سلولی در مقایسه با داروی استاندارد دوکسوروبیسین (به عنوان کنترل مثبت) محاسبه گردید.

نتایج: نتایج حاصل از بررسی اثر سمی ترکیبات A, B, C, D بر دو رده سلولی ۳۳۳ و A-375 نشان می‌دهد مشتقات جدید سارافلوکسازین سمیت تقریباً مشابهی را بر هر دو رده سلولی نشان داده است. میزان درصد زنده ماندن روی رده سلولی ۳۳۳ برای ترکیبات A, B, C, D با غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار به ترتیب ۵۷/۲۹، ۷۸/۹۰، ۷۰/۲۹ و ۵۶/۸۹ به دست آمد؛ و روی رده سلولی A-375 برای ترکیبات A, B, C, D با غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار به ترتیب ۱۸/۱۶، ۲۸/۵۸، ۱۸/۲۳ و ۴۰/۷۱ به دست آمد. در رده سلولی A-375، کمترین زنده‌مانی در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر توسط

ترکیب A و برابر با ۱۵/۸۹ درصد و بیشترین زنده‌مانی در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در ترکیب A و برابر با ۱۱۴/۱۲ درصد مشاهده گردید. در رده سلولی ۳۰۳، کمترین زنده‌مانی در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر توسط ترکیب A و برابر با ۵۵/۱۶ درصد و بیشترین زنده‌مانی در غلظت ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر در ترکیب B و برابر با ۹۹/۱۰ درصد مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: در این تحقیق سمیت سلولی غلظت‌های مختلف مشتقات جدید سارافلوکساسین بر روی رده سلولی ۳۰۳ و A-375 مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این بررسی اثرات مهاری وابسته به دوز در مشتقات جدید سارافلوکساسین بر روی رده سلولی ۳۰۳ و A-375 نشان داده است.

کلمات کلیدی: فلوروکینولون، مشتقات سارافلوکساسین، سمیت سلولی، رده سلولی ۳۰۳، رده سلولی A-375، داکینگ مولکولی.

Abstract

Introduction: Today, due to the spread of drug resistance and the spread of diseases, the need to discover and research new compounds with a greater range of effects and fewer side effects has become more important. Meanwhile, new derivatives of sarafloxacin, due to their extensive biological properties, became the reason why the toxicity of these compounds was investigated. Accordingly, the cytotoxicity of 4 compounds of new sarafloxacin derivatives on cell line 3T3 (mouse fibroblast cell) and (A-375 melanoma cancer cells) was investigated.

Methods: After culturing the cell class mentioned in the appropriate environment, ١٠,٠٠٠ cells were seeded in 96 wells microtiter plates in CO₂ incubator for 24 hours. Then 6 concentrations of 4 new sarafloxacin derivatives (1/0, 1, 10, 100, 500 and 1000 µM) were added to the cells, and incubation was performed for another 24 hours, and the next day the MTT reagent was added to each well. The rate of inhibition of cell growth was calculated in comparison with the standard drug doxorubicin (as a positive control).

Results: The results of the toxic effects of compounds A, B, C, and D on the 3T3 and A-375 cell lines show that the new sarafloxacin derivatives have shown almost the same toxicity on both cell lines. The viability % on the 3T3 cell line for compounds A, B, C, and D with a concentration of 1000 µM was 57.29, 78.90, 70.29, and 56.89, respectively. And on the A-375 cell line, for compounds A, B, C, D with a concentration of 1000 µM, 18.16, 28.58, 18.23, and 18.16, respectively. In A375 cell line, the lowest survival at a concentration of 500 µg/ml by compound A was 15.89% and the highest survival was observed at a concentration of 100 µg/ml in compound A and equal to 114.12%. In 3T3 cell line, the lowest survival at a concentration of 500 µg/ml by compound A and 55.16% the highest survival was observed at a concentration of 0.1 µg/ml in combination B and equal to 99.10%.

Conclusion: In this study, the cellular toxicity of different concentrations of the new sarafloxacin derivatives on the 3T3 and A-375 cell categories was evaluated. The results of this study showed dose-dependent inhibitory effects in new sarafloxacin derivatives on cellular categories 3T3 and A-375.

Keywords: Cytotoxicity, 3T3 Cell Line, A-375 Cell Line, Sarafloxacin, Molecular Docking.

منابع

- [1] Ciapetti G, Cenni E, Pratelli L, Pizzoferrato A. *In vitro* evaluation of cell/biomaterial interaction by MTT assay. **Biomaterials** 1993; 14:359-64.
- [2] Ruiz J. Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. **J Antimicrob Chemother** 2003;51:1109-17.
- [3] Leshner GY, Froelich EJ, Gruett MD. 1,8-naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents. **J Med Chem** 1962; 5:1063-5.
- [4] Spangler S, Jacobs M, Appelbaum PC. Susceptibility of anaerobic bacteria to trovafloxacin: comparison with other quinolones and non-quinolone antibiotics. **Infect Dis Clin Pract** 1996;5:S101-S9.
- [5] Vila J, Ruiz J, Sanchez F, Navarro F, Mirelis B, Jiménez de Anta M, *et al.* Investigation of quinolone resistance development of an *Haemophilus influenzae* strains isolated from a patient with recurrent respiratory infections treated with ofloxacin. **Antimicrob Agents Chemother** 1999;43:161-2.
- [6] Acar J, Goldstein FW. Trends in bacterial resistance to fluoroquinolones. **Clin Infect Dis** 1997; 24:S67-S73.
- [7] Solomon DH, Van Houten L, Glynn RJ, Baden L, Curtis K, Schrager H, *et al.* Academic detailing to improve use of broad-spectrum antibiotics at an academic medical center. **Arch Intern Med** 2001;161:1897-902.
- [8] Shimoda K. Mechanism of quinolone phototoxicity, **Toxicol Lett** 1998; 102-103: 369-373
- [9] Takura Y, Sco N, Fujie M, Takigawa M. Quinolone-photoconjugated major Histocompatibility complex class II-Binding peptides with lysine are antigenic for T cells mediating murine quinolone photoallergy. **J Invest Dermatol** 2001; 117(5): 1206-11.
- [10] Hooper DC, Wolfson JS. The fluoroquinolones: pharmacology, clinical uses, and toxicities in humans. **Antimicrob Agents Chemother** 1985; 28(5):716.
- [11] Hart C, Kariuki S. Antimicrobial resistance in developing countries. **BMJ** 1998; 317:647-50.

- [12] Masoompour SM, Yarmohammadi H, Rezaianzadeh A, Lankarani KB. Cancer incidence in southern Iran, 1998-2002: Results of population-based cancer registry. **Cancer Epidemiol** 2011; 35(5): e42-7.
- [13] Crumplin G, Smith JT. Nalidixic acid: an antibacterial paradox. **Antimicrob Agents Chem** 1975; 8:251-61.
- [14] Mitra AK, Agrahari V, Mandal A, Cholkar K, Natarajan C, Shah S, *et al.* Novel delivery approaches for cancer therapeutics. **J Control Release** 2015; 219:248-68.
- [15] Chen C-R, Malik M, Snyder M. DNA gyrase and topoisomerase IV on the bacterial chromosome: quinolone-induced DNA cleavage. **J Mol Biol** 1996; 258:627-37.
- [16] Umeda Y, Nagasaka T, Mori Y, Sadamori H, Sun D-S, Shinoura S, *et al.* Poor prognosis of KRAS or BRAF mutant colorectal liver metastasis without microsatellite instability. **J Hepatobiliary Pancreat Sci** 2013;20: 223-233.
- [17] Deitz WH, Cook TM. Mechanism of action of nalidixic acid on *Escherichia coli* III. Conditions required for lethality. **J Bacteriol** 1966;91:768-73.
- [18] Critchlow SE, Maxwell A. DNA cleavage is not required for the binding of quinolone drugs to the DNA gyrase - DNA complex. **Biochemistry** 1996; 35:7387-93.
- [19] Shen LL, Mitscher LA, Sharma PN, O'donnell T, Chu DW, Cooper CS, *et al.* Mechanism of inhibition of DNA gyrase by quinolone antibacterials: a cooperative drug-DNA binding model. **Biochemistry** 1989;28:3886-94.
- [20] Shen L, Bures M, Chu D. **Quinolone-DNA interaction: how a small drug molecule acquires high DNA binding affinity and specificity.** J. Jortner. 1990, 495–512.
- [21] Gudas LJ, Pardee AB. DNA synthesis inhibition and the induction of protein X in *Escherichia coli*. **J Mol Biol** 1976;101:459-77.
- [22] Power E, Phillips IJ. Induction of the SOS gene (umuC) by 4-quinolone antibacterial drugs. **J Med Microbiol** 1992;36:78-82.
- [23] Goss W, Deitz W. Mechanism of action of nalidixic acid on *Escherichia coli* II. Inhibition of deoxyribonucleic acid synthesis. **J Bacteriol** 1965; 89:1068-74.
- [24] Vogelstein B, Kinzler K. Cancer genes and the pathways they control. **Nat Med** 2004;10:789-99.
- [25] Dinardo S, Voelkel KA, Sternglanz R, Reynolds A. *Escherichia coli* DNA topoisomerase I mutants have compensatory mutations in DNA gyrase genes. **Cell** 1982; 31:43-51.

- [26] Alfarouk KO, Stock C-M, Taylor S, Walsh M, Muddathir AK, Verduzco D, *et al.* Resistance to cancer chemotherapy: failure in drug response from ADME to P-gp. *Cancer Cell Int* 2015; 15: 71-2.
- [27] Lewin C, Howard B, Ratcliff N, Smith J. 4-Quinolones and the SOS response. **J Med Microbiol** 1989;29:139-44.
- [28] Howard B, Pinney R, Smith JT. 4-Quinolone bactericidal mechanisms. **Arzneimittel-Forschung** 1993;43:1125-9.
- [29] Lewin C, Ames B, Smith JT. Bactericidal activity of enoxacin and lomefloxacin against *Escherichia coli* KL16. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis** 1989; 8:731-3.
- [30] Chow R, Dougherty T, Fraimow H. Association between early inhibition of DNA synthesis and the MICs and MBCs of carboxyquinolone antimicrobial agents for wild-type and mutant [gyrA nfxB (ompF) acrA] *Escherichia coli* K-12. *Int J Antimicrob Agents Chem* 1988; 32:1113-8.
- [31] Freshney R. **Culture of animal cells**. 3rd ed. NewYork: Willey-Liss. 2010; 213-240.
- [32] Howard B, Pinney R, Smith JT. Function of the SOS process in repair of DNA damage induced by modern 4-quinolones. **J Pharm Pharmacol** 1993; 45:658-62.
- [33] Urios A, Herrera G, Aleixandre V, Blanco M. Influence of recA mutations on gyrA dependent quinolone resistance. **Biochimie** 1991;73:519-21.
- [34] Schlick T. **Molecular modeling and simulation: an interdisciplinary guide: an interdisciplinary guide**. NewYork: Springer-Verlag 2010; 22-10.
- [35] Kukol A. **Molecular modeling of proteins**. NewJersey, United States: Springer, 2008; 212-220.
- [36] Kitchen DB, Decornez H, Furr JR, Bajorath J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. **Nat Rev Drug Discov** 2004; 3:935-49.
- [37] Meng EC, Shoichet BK, Kuntz ID. Automated docking with grid-based energy evaluation. **J Comput Chem** 1992;13:505-24.
- [38] Morris GM, Goodsell DS, Halliday RS, Huey R, Hart WE, Belew RK, *et al.* Automated docking using a lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. **J Comput Chem** 1998;19:1639-62.

- [39] Feig M, Onufriev A, Lee MS, Im W, Case DA, Brooks CL. Performance comparison of generalized born and poisson methods in the calculation of electrostatic solvation energies for protein structures. **J Comput Chem** 2004;25:265–84.
- [40] Wandzik I. Current molecular docking tools and comparisons thereof. **Math Comput Chem** 2006;55:271–8.
- [41] Huang Z. **Drug discovery research: new frontiers in the post-genomic era**. New Jersey, USA: John Wiley & Sons 2007: 142-150.
- [42] Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, *et al*. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **J Comput Chem** 2009;30:2785–91.
- [43] Morris GM, Goodsell DS, Pique ME, Lindstrom WL, Huey R, Forli S, *et al*. **User Guide AutoDock Version 4.2**. U.S.A: The Scripps Research Institute Molecular Graphics Laboratory, 2014.
- [44] Garbe C, Leiter U. Melanoma epidemiology and trends. **Clin Dermatol** 2009; 27(1): 3-9.
- [45] Morris GM, Goodsell DS, Pique ME, Lindstrom WL, Huey R, Forli S, *et al*. **User Guide AutoDock Version 4.2**. U.S.A :The Scripps Research Institute Molecular Graphics Laboratory, 2014: 54-80.
- [46] Huey R, Morris GM. **Using AutoDock4 with AutoDockTools: A Tutorial**. California: The Scripps Research Institute Molecular Graphics Laboratory 2008:7-40.
- [47] ChemAxon. MarvinSketch 6.2.2. 2014.
- [48] Ameri A, Khodarahmi G, Hassanzadeh F, Forootanfar H, Hakimelahi GH. Novel aldimine-type Schiff Bases of 4-amino-5-[(3,4,5-trimethoxyphenyl) methyl]-1, 2, 4-triazole-3-thione/thiol: docking study, synthesis, biological evaluation, and anti-tubulin activity. **Arch Pharm Chem Life Sci** 2016; 349:662–81.
- [49] Fricker PC, Gastreich M, Rarey M. Automated Drawing of Structural Molecular Formulas under Constraints. **J Chem Inf Comput Sci** 2004; 44:1065-78.
- [50] Stierand K, Maaß PC, Rarey M. Molecular complexes at a glance: automated generation of two-dimensional complex diagrams. **Bioinformatics** 2006; 22(14):1710-6.
- [51] Nastasă C, Vodnar DC, Ionuț I, Stana A, Benedec D, Tamaian R, *et al*. Antibacterial evaluation and virtual screening of new thiazolyl-triazole schiff bases as potential DNA-gyrase inhibitors. **Int J Mol Sci** 2018; 19(1):222.

- [52] Ameri A, Khodarahmi G, Forootanfar H, Hassanzadeh F, Hakimelahi GH. Hybrid pharmacophore design, molecular docking, synthesis, and biological evaluation of novel aldimine-type schiff base derivatives as tubulin polymerization inhibitor. **Chem Biodivers** 2018; 15(3)
- [53] Bowden K, Izadi J. Multifunctional derivatives of metronidazole. **Il Farmaco** 1998; 53(1):58-61.
- [54] Dubey S, Jain V, Preethi G. Evaluation of lipophilicity, antimicrobial activity and mutagenicity of some novel ester prodrugs of metronidazole. **India J Chem** 2009; 1571-1576.
- [55] Ivanov D, Budanov S. Ciprofloxacin and antibacterial therapy of respiratory tract infections. **Antibiot Khimioter** 2005; 51(5):29-37.
- [56] Andersson MI, MacGowan AP. Development of the quinolones. **J Antimicrob Chemother** 2003; 51:1-11.
- [57] Hooper DC, Wolfson JS. The fluoroquinolones: pharmacology, clinical uses, and toxicities in humans. **Antimicrob Agents Chem** 1985; 28(5):716.
- [58] Heeb S, Fletcher MP, Chhabra SR, Diggle SP, Williams P, Cámara M. Quinolones: from antibiotics to autoinducers. **FEMS Microbiol Rev** 2011; 35(2):247-74.
- [59] Nelson JM, Chiller TM, Powers JH, Angulo FJ. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* species and the withdrawal of fluoroquinolones from use in poultry: a public health success story. **Clin Infect Dis** 2007;44(7):977-980.
- [60] Maria Minta, Lidia Radkolidia, Sylwia Stypuła-Trębas. Influence of fluoroquinolones on viability of Balb/c3T3 and HepG2 cells, National Veterinary Research Institute. **Bull Vet Inst pulawy** 2013; 25-30
- [61] Paul E. Intrinsic cytotoxic effects of fluoroquinolones on human corneal keratocytes and endothelial cells. **Curr Med Res Opin** 2008 (volum 24): 1-5.
- [62] Suto M, Domagala J, Roland G, Mailloux G, Cohen M. Fluoroquinolones: relationships between structural variations, mammalian cell cytotoxicity and antimicrobial activity. **J Med Chem** 1992; 35(25): 4745-4750.



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده داروسازی

پایان نامه آقای سجاد خلیلی کرچی دانشجوی داروسازی ورودی ۹۲ به شماره ۱۱۸۹

تحت عنوان:

مطالعات الکترونیک مولکولی مشتقات جدید سارا فلوکسازین بر عنوان مهارکننده بالقوه DNA تیراز و بررسی اثر سمیت

سلولی آن با برده های سلولی 3T3 و A-375

استاد (اساتید) راهنما:

دکتر حمید فروتن فر

دکتر محمدحسن مصطفی

دکتر عالیہ عامری

استاد مشاور:

دکتر علیرضا فرومدی

هیئت محترم داوران:

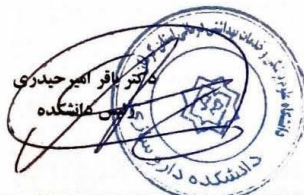
۱- دکتر بهزاد بهنام

۲- دکتر احسان فقیه میرزایی

در تاریخ ۹۹/۰۵/۱۹ مورد ارزیابی قرار گرفت و با نمره (با عدد) ۱۸/۸۸
(با حروف) ...جمله در سال ۱۳۹۹ م. به تصویب رسید.

دکتر مصطفی پورنامداری
رئیس اداره پایان نامه

محمد رضا فتحی
کارشناس اداره پایان نامه
۴۹/۵/۱۹



دکتر میترا بهربانی
معاون پژوهشی دانشکده